Untersuchungen über die bakterienhemmende Wirkung von Gewebeklebern als direkte Pulpenüberkappungsmittel

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde

der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Hans-Joachim WEBER

Saarbrücken

1973

Aus dem Institut für Hygiene und Mikrobiologie (Prof. Dr. med., Dr. phil., Dipl. Chem. W. ZIMMERMANN) und der Abteilung für Prothetik der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten (Prof. Dr. med. dent. H. SCHMEISSNER) der Universität des Saarlandes

---

Untersuchungen über die bakterienhemmende Wirkung von Gewebeklebern als direkte Pulpenüberkappungsmittel

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung der Doktorwürde

der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

1973

vorgelegt von

Hans-Joachim WEBER

geb. am 4.9.1945 in Neunkirchen/Saar

Dekan: Prof. Dr. med. G. JUTZLER

Referenten: Prof. Dr. med., Dr. phil., Dipl.Chem. W. ZIMMERMANN

Prof. Dr. med. dent. H. SCHMEISSNER

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der mündlichen Prüfung: 29.10.1973

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547310_0053

Inhaltsverzeichnis

Seite

I. Einleitung und Fragestellung 3

II. Material und Methoden

A. Testsubstanzen 6

B. Testkeime 10

C. Hemmungsteste 10

1. Versuch 10

2. Versuch 13

3. Versuch 14

4. Versuch 15

III. Darstellung der Ergebnisse

Resultate des 1. Versuchs 17

Resultate des 2. Versuchs 34

Resultate des 3. Versuchs 40

Resultate des 4. Versuchs 40

IV. Vergleich der eigenen Befunde mit der gegenwärtigen Literatur 44

V. Diskussion der Ergebnisse mit Schlußfolgerung 47

VI. Zusammenfassung 50

VII. Schrifttum 52

VIII. Anhang 55

1. Einleitung

Zur Versorgung von Weichteilverletzungen, die unbeabsichtigt traumatischen oder gezielt operativen Ursprungs sind, findet in der Regel die herkömmliche Nahttechnik weitverbreitete Anwendung. Da jedoch dieser Methode der Wahl auch gewisse Mängel anhaften, besonders ästhetischer Art in sichtbaren Bereichen, versucht man durch das Aufbringen von Klebestreifen diesen Nachteilen wenigstens teilweise zu begegnen. Hinzu kommt schließlich auch das Bestreben, einfach durch Kleben eine nahtlose Gewebevereinigung zu erzielen.

Während Wundklebungen nach einem historischen Rückblick von HÄRING und HEISS bis ins Altertum zurückreichen und bis in unsere Zeit mit immer wieder neuen, aber praktisch erfolglosen Variationen angewendet wurden, findet das Verfahren des nahtlosen Wundverschlusses durch Kleben seit 1959 erneut umfassendes Interesse. COOVER und Mitarbeiter entdeckten zu dieser Zeit die zuverlässige Klebewirkung von Alkylestern der Cyano-acrylsäure. Seither wurden diese Stoffe, als Wundkleber bezeichnet, zunächst experimentell an nahezu allen Geweben und Organen auf ihre Eignung zum Ersatz oder zur Sicherung der chirurgischen Naht sowie zur Verwendung als Hämostatikum oder ganz allgemein als Schutzfilm in der auspolymerisierten Form untersucht. Die Ergebnisse ermutigten dann auch zur klinischen Erprobung und erfolgreichen Anwendung, z.B. bei der Versorgung von Hautwunden (DAMMANN).

Durch SCHMEISSNER wurde 1970 erstmals der Gewebekleber HISTOACRYL-N, ein Cyano-acrylsäure-butylester, experimentell am Zahn als Pulpaüberkappungsmittel erfolgreich überprüft. Zur Versorgung der freiliegenden

Zahnpulpa schienen diese flüssigen, monomeren Substanzen, die rasch zu einem festen, zusammenhängenden Schutzfilm auspolymerisieren, besonders geeignet, weil dieses Gewebe innerhalb der Zahnhartsubstanzen nicht durch Naht oder andere Methoden der Gewebevereinigung versorgt werden kann.

Zum Erhalt der Vitalität des Zahnes, und damit zur Defektversorgung, muß die eigene reparatorische Leistungsfähigkeit der gesunden Pulpa ausgenutzt werden. Dazu bedarf sie eines Wund- und Schutzverbandes, der sie vor allen äußeren Noxen schützt, und unter dem sie an ihrer Oberfläche eine neue Hartsubstanzbarriere bildet. Als Methode der Wahl gilt die Versorgung der akzidentell oder präparatorisch freigelegten Pulpa mit einem Präparat auf Calciumhydroxid-Basis als Pulpaüberkappungsmittel und anschließendem Verschluß des Defekts in Schmelz und Dentin mit einem temporären oder definitiven Füllungsmaterial. Dieses Verfahren wird als direkte Pulpaüberkappung bezeichnet.

Obwohl die Anwendung der stets pastösen Calciumhydroxid-Präparate als ausgereifte Standardmethode gilt, ist das praktische Vorgehen nicht unproblematisch (SCHMEISSNER). Hier schien die Überschichtung der Pulpa mit dem festen Kunststoff-Film des auspolymerisierten Monomers wesentlich günstiger. Wie die experimentellen Untersuchungen von SCHMEISSNER zeigten, führt der monomere Kunststoff am sonst so empfindlichen Pulpagewebe zu keinen pathologischen und irreversiblen Veränderungen, sondern bot diesem stets Schutz und Regenerationsmöglichkeit. Da jedoch mit dem artifiziellen Eröffnen der Pulpahöhle in der Regel wohl auch eine Oberflächeninfektion der Pulpa verbunden ist, z.B. durch unsteril

gewordene und mit kariösen Massen infizierte Bohrer oder durch Speichel, wäre es wünschenswert, daß das Überkappungsmittel neben anderen wundheilungsfördernden Eigenschaften auch eine bakterizide bzw. bakteriostatische Wirkung besitzt. Den bisher fast ausschließlich als Überkappungsmittel dienenden Calciumhydroxid-Präparaten wird eine bakterizide Wirkung zugeschrieben (CASTAGNOLA, SAUERWEIN u.a.).

Da auch DAMMANN in der Unfallchirurgie die geringere Wundinfektion geklebter Wunden gegenüber genähten besonders auffiel, wurden einige Gewebekleber auf ihre antibakterielle Wirkung überprüft. Eine starke Wirksamkeit dieser Stoffe in ihrer Anwendung als Überkappungsmittel könnte den Erfolg des Verfahrens sehr wesentlich und günstig beeinflussen.

II. Material und Methoden

A. Testsubstanzen:

Nach SCHMEISSNER ist die Tatsache des Haftens der Gewebekleber auf verschiedene Weise denkbar:

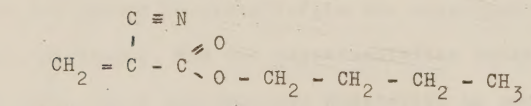
a) Die Alkylester entfalten ihre Klebewirkung rein mechanisch durch das Eindringen des monomeren und Festhalten des polymeren Films in den Unregelmäßigkeiten der bestrichenen Flächen.

b) Bei Polymerisation durch Hydroxylionen erfolgt der Zusammenhalt des polymeren Films wie auch bei a) durch elektrostatische Anziehung, über Wasserstoffbrücken oder durch allgemeine Massenanziehung (van der Waalsche Kräfte) sowie durch Kombination.

c) Bei Polymerisation durch Proteine als Starter erfolgt sofort eine direkte Verbindurg zum Gewebe.

In praxi wird die Klebewirkung wohl durch eine Kombination aller Vorgänge bewirkt.

Cyano-acrylsäure-butylester:



$[CH_2 = C\ (CN)\ C\ O\ O\ (C_4H_9)]$

(HISTOACRYL)

Als Testsubstanzen wurden HISTOACRYL-N und HISTOACRYL- Spray (Fa. Braun, Melsungen) verwendet. Es handelt sich hierbei um einen monomeren Cyano-acrylsäure-butylester, eine hochgereinigte Flüssigkeit, der als Inhibitor lediglich SO_2 bis zu 35 ppm zugesetzt ist, da Stabilisator- und Verdickerzusätze zu Gewebeunverträglichkeit führen. HISTOACRYL-N enthält neben dem erwähnten Schwefeldioxid einen zur Blaufärbung führenden und in einer Konzentration von 0,1 Gew.-% gelösten Antrachinonfarbstoff, der die Stabilität des Monomers um das Dreifache steigert (ROLLE), und dessen Farbintensität Aufschluß über die Dicke des aufgetragenen Klebers geben soll. Durch rasche Polymerisation in feuchtem und alkalischem Milieu erübrigt sich der Zusatz spezieller Katalysatoren, auch fehlen verdunstbare Lösungsmittel. Butylester nehmen aufgrund ihrer chemischen und physikalischen Eigenschaften einerseits und wegen ihres biologischen Verhaltens andererseits wohl die günstigste Mittelstellung ein (SCHMEISSNER).

Der Kleber HISTOACRYL ist in kleinen Kunststoffampullen und in Sprayform im Handel. Die an der Ampulle angeschweißte Kunststoffkapillare dient zum Auftragen des Klebers, der nach Abschneiden der Spitze durch leichten Fingerdruck appliziert werden kann. Der HISTOACRYL-Spray enthält keinen Antrachinonfarbstoff. Über das in der glasklaren Flüssigkeit enthaltene Treibgas ist nichts bekannt.

Die sehr labilen Alkylester sind besonders leicht polymerisationsfähig. Zur Polymerisation benötigen sie im allgemeinen 10 bis 60 Sekunden oder mehr, je nach Temperatur und applizierter Menge des Gewebeklebers. Die Erhärtung geschieht durch einen vorwiegend an-

ionischen Reaktionsmechanismus. Beim Kontakt mit Körpergewebe führen das dort immer vorhandene Wasser oder andere Verbindungen mit freien Elektronenpaaren zur Polymerisation.

Aus der Reihe der bewährten Pulpenüberkappungsmittel auf Calciumhydroxid-Basis fanden als Vergleichssubstanzen das bekannte CALXYL (Fa. Otto & CO, Frankfurt/Main) und das Produkt DROPSIN (Fa. Svedia, Enköpping) Verwendung. CALXYL besteht aus Calciumhydroxid und Ringersalzen und kommt in Pastenform in den Handel, während das Produkt DROPSIN in der Pulverform Calciumhydroxid, Magnesiumoxid, Aluminiumhydroxid und Zinkoxid enthält; die flüssige Form besteht aus Phosphorsäure, Aluminiumhydroxid und destilliertem Wasser.

Um einen Vergleich mit dem Kunststoff HISTOACRYL in antibakterieller Hinsicht ziehen zu können, wurden der Prothesenkunststoff PALADUR, ein Meth-acrylsäure-methylester, und das Füllungsmaterial PALAKAV ebenfalls getestet. Beide Produkte stellt die Fa. Kulzer & CO., Bad Homburg, her. PALAKAV besitzt die Eigenschaft, sich chemisch mit dem Dentin zu verbinden, indem eine Pfropfpolymerisation mit dem Dentin eingegangen wird. Das Füllungsmaterial besteht aus Pulver, Flüssigkeit und Katalysator. Das Pulver enthält zu $\frac{4}{5}$ anorganische Materialien wie z.B. Glasperlen, der Rest ist Haftstoff. Die Flüssigkeit stellt ein Methyl-methacrylat dar, während der Katalysator aus Tri-n-butylboran besteht.

Tabelle 1: Getestete Kleber

	Firmenname	Chem. Hauptbestandteil
a) Cyano-acrylester	HISTOACRYL	Cyano-acrylsäure-butylester $CH_2 = C(CN) \cdot COO(C_4H_9)$
	MIRABOND	Cyano-acrylsäure-äthylester
	COAPT	Cyano-acrylsäure-isobutylester
	CYANODONT	Cyano-acrylsäure-butylester
b) Vergleichsstoffe auf Meth-acrylat-Basis	PALADUR	Methyl-acryl-methylester
	PALAKAV	Methyl-acryl-methylester
c) Vergleichsstoffe auf Calcium-hydroxid-Basis	CALXYL	Calciumhydroxid $Ca(OH)_2$
	DROPSIN	$Ca(OH)_2$, MgO, Al_2O_3, ZnO

B. Testkeime:

Bei den Versuchen wurden von den verschiedenen regelmäßig oder gelegentlich in der Mundhöhle vorkommenden Bakterienstämmen folgende Mikroorganismen als Testkeime verwendet:

1) Streptococcus lactis
2) Vergrünende Streptokokken
3) Hämolysierende Streptokokken
4) Staphylococcus albus
5) Staphylococcus aureus
6) Sarcina ventriculi
7) Neisseria catarrhalis
8) Lactobacillus bifidus
9) Bacillus subtilis
10) Candida albicans
11) Escherichia coli
12) Proteus vulgaris
13) Pseudomonas aeruginosa

C. Hemmungsteste:

1. Versuch:

Von allen Mikroorganismen wurden 24-Stunden-Reinkulturen verwendet. Die erste Untersuchung erfolgte im Lochplattentest. Von den dreizehn Testkeimarten wurden Suspensionen durch Abschwemmen des dichten Bakterienrasens mit 10 ml sterilen Leitungswassers hergestellt und neben der Ausgangssuspension (n) die Verdünnungen $\frac{n}{10}$ und $\frac{n}{100}$ gewonnen. Die Verdünnungen sollten Aufschluß darüber geben,

bei welcher Konzentration der Testkeime in den Versuchsreihen die hemmende Wirkung der zu testenden Substanzen am größten ist.

Alle Testkeime wurden auf DTS-OXOID-Agar kultiviert, außer Lactobacillus bifidus, der auf MRS-Medium im Anaerobiertopf getestet wurde. Zur Hestellung des MRS-Mediums wurden folgende Substanzen benötigt:

Pepton (oxoid)	10 g/l
Lablemco FE	10 g/l
Hefeextrakt	5 g/l
Glucose	20 g/l
Tween 80	1 ml/l
$K_2H\ PO_4$	2 g/l
Na-acetat . 3 H_2O	5 g/l
Diammoniumcitrat	2 g/l
Mg SO_4. 7 H_2O	200 mg/l
Mn SO_4 . $4H_2O$	50 mg/l
End-PH - 6,0 - 6,5	

Von jedem der dreizehn Bakterienstämme wurden 0,1 ml der Ausgangssuspension (n) sowie der beiden Verdünnungen $\frac{n}{10}$ und $\frac{n}{100}$ auf der Nährbodenoberfläche ausgespatelt. Danach wurden die Petrischalen 15 Minuten lang bei 37 ^{o} stehen gelassen, um eine trockene Oberfläche zu erhalten. Anschließend wurden aus dem Agar jeder Schale 5 Löcher mit einem Querschnitt von 7 mm ausgestanzt.

In das Loch Nr. 1 wurde aus einer Ampulle HISTOACRYL-N randvoll eingetropft; CALXYL konnte mit Hilfe einer Kunststoffspritze in das Loch Nr. 2 ebenso randvoll appliziert werden. In die übrigen Ausstanzungen kamen die restlichen Testsubstanzen DROPSIN, PALADUR und PALAKAV, die nach Vorschrift vorher angerührt worden waren. Die in jeder Petrischale gleichstarke Schichtdicke von 10 ml Nährboden gewährleistete zusammen mit dem gleichgroßen Querschnitt der Ausstanzungen die Standardisierung der Testsubstanzmengen.

Der HISTOACRYL-Spray konnte nicht nach den herkömmlichen Testmethoden von Substanzen in Sprayform durch Ablassen des Treibgases untersucht werden, wie es WALLHAUSER und SCHMIDT vorschlagen, weil die Gefahr der vorzeitigen Polymerisation besteht. Der Spray ließ sich daher nur auf die Nährbodenoberfläche tropfen. Hierfür wurde ein Kunststoffspeichelsauger an der Spraydüse festgeklebt und abgewinkelt. Durch die Biegung gebremst und kondensiert, konnte nun bequem ein Tropfen auf den Agar gebracht werden. Das Auffüllen eines ausgestanzten Loches war nicht möglich, da das Treibgas am Rande der Ausstanzung den Agar von der Bodenfläche abhob.

Nach einer Diffusionszeit von 4 Stunden bzw. 24 Stunden bei +4° C. wurden alle Petrischalen 24 Stunden bei 37° C. bebrütet. Bei diesem und bei den folgenden Versuchen wurde gleichzeitig eine Wachstumskontrolle der Erreger ohne Medikamenteneinfluß durchgeführt.

2. Versuch:

Im zweiten Versuch fand ebenfalls die Lochplattenmethode mit der gleichen Versuchsanordnung wie im ersten Test und den gleichen dreizehn Testkeimen Verwendung. Im Gegensatz zum ersten Versuch wurde jedoch nur die Keimkonzentration $\frac{n}{10}$ angewandt, weil sie die bestmöglichen Versuchsbedingungen ergab.

In diesem Test sollte der antibakterielle Effekt des Butylklebers HISTOACRYL-N mit anderen bis jetzt bekannten Gewebeklebern, wie MIRABOND, COAPT, CYANODONT und GELATINE-RESORCIN-KLEBER untersucht werden.

Das Produkt MIRABOND der Fa. Hager & Werken, Duisburg, stellt einen Äthylester der Cyano-acrylsäure dar, der als niedrige homologe Verbindung wegen seiner größeren Toxizität mehr im technischen Sektor als beim Wundverschluß einzusetzen ist. Es wird in Phiolenform geliefert.

Der von der Fa. Ethicon, Hamburg-Norderstedt, hergestellte GewebekleberCOAPT in Glasampullen ist der Isobutylester der Cyano-acrylsäure, dessen Vorteile in der wesentlich geringeren Toxizität zu sehen sind, da die Gewebeverträglichkeit sich mit der steigenden homologen Reihe verbessert.

Das Präparat CYANODONT der Fa. Septodont, Paris, stellt den durch Schwefelsäureanhydrid stabilisierten Butylester der Cyano-acrylsäure dar. Durch die Verflüchtigung des Stabilisators wird die Polymerisation des Kunststoffes stark beschleunigt. Der Gewebekleber kommt

in Plastikfläschchen in den Handel.

Als letzte Testsubstanz in diesem Versuch wurde der aus zwei Komponenten bestehende GELATINE-RESORCIN-KLEBER (Fa. Braun, Melsungen) verwendet. Die Packung enthält Plastikampullen mit einer Gelatine-Resorcin-Mischung und eine Ampulle einer wässrigen Glutaraldehyd-Lösung.

Die Präparate HISTOACRYL, COAPT und der GELATINE-RESORCIN-KLEBER werden steril geliefert, dagegen MIRABOND unsteril. Die in dem Produkt CYANODONT enthaltenen Schwefelverbindungen bewirken eine Autosterilität.

Gemäß der Versuchsanordnung im ersten Test wurden jeweils 0,1 ml der Keimkonzentration $\frac{n}{10}$ auf der Nährbodenoberfläche ausgespatelt und 7 Löcher ausgestanzt. In die ersten fünf Ausstanzungen wurden die oben erwähnten Gewebekleber appliziert. Das sechste Loch wurde mit der einen Komponenten des GELATINE-RESORCIN-KLEBERS, nämlich der Gelatine-Resorcin-Mischung, randvoll aufgefüllt, während in die letzte Ausstanzung die wässrige Glutaraldehyd-Lösung kam, um festzustellen, ob beide Anteile zusammen oder nur einer einen antibakteriellen Effekt zeigten. Nach einer Diffusionszeit von 4 Stunden bei + 4° C. erfolgte die Bebrütung aller Petrischalen bei 37° C.

3. Versuch:

Als dritter Versuch bot sich der Reihenverdünnungstest an, der mit den beiden Teststämmen Staphylococcus aureus und Neisseria catarrhalis

und den Substanzen HISTOACRYL-N, HISTOACRYL-Spray, MIRABOND, COAPT, CYANODONT und der zweiten Komponenten des GELATINE-RESORCIN-KLEBERS, der Glutaraldehyd-Lösung, durchgeführt wurde.

Da sich bei der Lösung des nach Vorschrift angerührten Zweikomponenten-Klebers in einem Lösungsmittel Schwierigkeiten ergaben, und die Vorversuche gezeigt hatten, daß sich mit beiden Anteilen zusammen sowie einzeln der gleiche antibakterielle Effekt erzielen ließ, reichte die Verwendung der Glutaraldehyd-Lösung allein völlig aus.

Die Untersuchungen im Reihenverdünnungstest erfolgten in zwei Variationen.

Hierzu wurden in der ersten dieser Variationen in ein Reagenzglas mit 5 ml steriler Bouillon 10 Tropfen Testsubstanz gegeben, das sind ungefähr 150 mg, die sofort polymerisierten .Nach einer Diffusionszeit vor 24 Stunden bei 37° C. wurde 1 ml dieser Ausgangssuspension (a) in ein zweites Reagenzglas mit 4 ml steriler Bouillon pipettiert und davon wieder 1 ml in das nächste Röhrchen usw., bis zu einer Verdünnung $\frac{a}{3125}$ im sechsten Teströhrchen. Anschließend wurde jedes Reagenzglas mit 0,1 ml der Suspension einer 24 Stunden alten Bakterienkultur auf festen Nährböden in 5 ml sterilem Leitungswasser beimpft und 24 Stunden bei 37° C. im Rüttler stehengelassen.

4. Versuch:

In der zweiten Variante des Reihenverdünnungstestes wurde die Ausgangslösung (b) aus 10 Tropfen in 5 ml Aceton gelöstem Gewebekleber

gewonnen. Anschließend wurde wieder eine Verdünnungsreihe hergestellt, indem 1 ml der Lösung in 4 ml sterile Bouillon pipettiert und weiter verdünnt wurde. Dabei kam es infolge von Ausfällungen in der Bouillon zu Trübungen, die umso stärker waren, je weniger Aceton die Ausgangslösung enthielt. In Vorversuchen stellte sich heraus, daß das Lösungsverhältnis 150 mg Kleber in 5 ml Aceton am günstigsten war. Nach Beimpfung mit 0,1 ml der im dritten Versuch erwähnten Keimsuspension erfolgte eine 24-stündige Bebrütung bei 37° C. im Rüttler.

Zur Wachstumskontrolle des zu prüfenden Erregers wurden 5 ml sterile Bouillon mit 0,1 ml Keimsuspension beimpft.

Um festzustellen, ob eventuell das Aceton ebenfalls einen vermehrungshemmenden Einfluß ausüben könnte, wurde zur Kontrolle 1 ml Aceton in 4 ml sterile Bouillon gegeben, das Ganze in einer Reihe weiter verdünnt, beimpft und bebrütet.

Nach 24, 48 und 72 Stunden bei 37° C. wurde jedem Teströhrchen mit der Impföse etwas Material entnommen und auf Agarplatten ausgestrichen, anschließend bebrütet.

III. Darstellung der Ergebnisse

Resultate des 1. Versuchs:

Beim ersten Lochplattentest konnte folgendes Ergebnis erzielt werden:

Die beiden Kunststoffe PALADUR und PALAKAV zeigten keinerlei Hemmwirkung auf die Mikroorganismen. Mit den übrigen Testsubstanzen konnten bei allen Erregern - sowohl in der Ausgangssuspension (n) wie auch in den beiden Verdünnungen - makroskopisch meist kreisrunde Hemmhöfe erzeugt werden, deren Durchmesser vom Rand der Ausstanzung bis zum Beginn des dichten Bakterienrasens in mm gemessen wurde. Diese Höfe geben jedoch zunächst keine Auskunft über den bakteriziden oder bakteriostatischen Effekt der Testsubstanzen. Deshalb wurde aus allen Höfen mit der Impföse Material auf neue Nährböden ausgestrichen und die Schalen bei 37° C. bebrütet. Bei fehlendem Wachstum mußte der Teststoff bakterizid gewirkt haben. Trat jedoch Wachstum auf, so konnte es sich in der entsprechenden Konzentration im Hemmhof nur um einen bakteriostatischen Effekt handeln, sofern die auf dem neuen Nährboden gewachsenen Mikroorganismen mit denen auf der Lochplatte getesteten identisch waren.

Bei den Tests zeigte sich, daß sich die Größe der Hemmhöfe bei vierstündiger und vierundzwanzigstündiger Diffusionszeit nur unwesentlich unterschied; es genügte daher eine Diffusionsdauer der Substanzen von vier Stunden.

Auffällig war, daß bei allen Testkeimen die Hemmhöfe durch

HISTOACRYL-Spray kleiner waren als die durch HISTOACRYL-N aus der Ampulle. Dies hing jedoch mit der Schwierigkeit in der Applikationstechnik zusammen. Während aus der Ampulle stets vier Tropfen Monomer in das ausgestanzte Loch gefüllt wurden, konnte vom Spray nur 1 Tropfen unterschiedlicher Größe auf die Oberfläche des Mediums gegeben werden.

Wie bei anderen vermehrungshemmenden Substanzen war auch bei HISTOACRYL, CALXYL und DROPSIN die bakterizide bzw. bakteriostatische Wirkung von der Bakterienmenge abhängig. Mit der Zunahme der Zellzahl nahm die Hemmhofgröße ab.

HISTOACRYL war auf alle Testkeime wirksam. Dabei hatte dieser Gewebekleber auf die Mehrzahl der Mikroorganismen, nämlich auf St. albus, St.aureus, Sarcina ventriculi, Neisseria catarrhalis,hämolysierende und vergrünende Streptokokken, Str. lactis, Lactobacillus bifidus, B. subtilis und Candida albicans eine bakterizide Wirkung. Lediglich bei Pseudomonas aeruginosa, E. coli und Proteus vulgaris ließ sich nur Bakteriostase erkennen.

CALXYL war ebenfalls gegenüber allen Erregern wirksam. Ein bakterizider Effekt konnte außer bei Proteus vulgaris und B. subtilis, bei denen das Produkt bakteriostatisch wirkte, festgestellt werden, jedoch war seine Wirksamkeit in den meisten Fällen geringer als die des Gewebeklebers HISTOACRYL.

Die geringste Wirkung unter den Testsubstanzen in diesem Versuch zeigte DROPSIN, das bei E. coli, St.aureus, Sarcina ventriculi,

Neisseria catarrhalis, hämolysierenden und vergrünenden Streptokokken sowie bei Lactobacillus bifidus einen bakteriziden, bei den restlichen Erregern jedoch einen bakteriostatischen Effekt erkennen ließ.

Für jeden Testkeim wurden die Werte aus allen Versuchsreihen tabellarisch erfaßt (Tab.2 - 14). Zur Gesamtübersicht sind die Resultate in einem Schaubild wiedergegeben (Abb. 1). Dabei sind in Abb.1 die Mittelwerte der Hemmhofdurchmesser aus den Testreihen 1 und 2 (Doppelversuche) bei einer Diffusionszeit von vier Stunden und einer Keimkonzentration von $\frac{n}{10}$ berücksichtigt.

Tab. 2: Pseudomonas aeruginosa

Versuche	Verdünnung d. Keimsuspension	Histoacryl-Ampulle	Histoacryl-Spray	Calxyl	Dropsin	Paladur	Palakav
1. Diffusionszeit 4 Std.	n	II= 4	II= 1	I = 2	II= 2	C	0
	n/10	II= 4	II= 1	I = 2	II= 2	C	0
	n/100	II= 6	II= 3	I = 3	II= 3	0	0
2. Diffusionszeit 4 Std.	n	II= 4	II= 2	I = 2	II= 2	0	0
	n/10	II= 4	II= 3	I = 3	II= 2	0	0
	n/100	II= 5	II= 3	I = 3	II= 2	0	0
3. Diffusionszeit 24 Std.	n	II= 4	II= 1	I = 2	II= 2	0	0
	n/10	II= 4	II= 2	I = 2	II= 2	0	0
	n/100	II= 6	II= 2	I = 3	II= 2	0	0
4. Diffusionszeit 24 Std.	n	II= 3	II= 2	I = 2	II= 2	0	0
	n/10	II= 4	II= 3	I = 3	II= 2	C	0
	n/100	II= 6	II= 3	I = 3	II= 3	0	0

Tabelle 2 zeigt die Größen der in mm gemessenen Hemmhöfe; I= Bakterizidie; II= Bakteriostase; C= keine antibakterielle Wirkung; n= Ausgangssuspension.

Tab. 3: Escherichia coli

Versuche	Verdünnung d. Keimsuspension	Histoacryl-Ampulle	Histoacryl-Spray	Calxyl	Dropsin	Paladur	Palakav
1. Diffusionszeit 4 Std.	n	II= 3	II= 1	I = 2	I = 1	0	0
	n/10	II= 3	II= 1	I = 3	I = 1	0	0
	n/100	II= 5	II= 2	I = 4	I = 2	0	0
2. Diffusionszeit 4 Std.	n	II= 3	II= 1	I = 2	I = 1	0	0
	n/10	II= 4	II= 1	I = 3	I = 1	0	0
	n/100	II= 6	II= 2	I = 4	I = 2	0	0
3. Diffusionszeit 24 Std.	n	II= 3	II= 1	I = 2	I = 1	0	0
	n/10	II= 3	II= 1	I = 4	I = 1	0	0
	n/100	II= 5	II= 2	I = 4	I = 1	0	0
4. Diffusionszeit 24 Std.	n	II= 3	II= 1	I = 2	I = 1	0	0
	n/10	II= 4	II= 2	I = 3	I = 1	0	0
	n/100	II= 6	II= 2	I = 4	I = 2	0	0

Legende zu Tab. 3: siehe Tab. 2

Tab. 4: Proteus vulgaris

Versuche	Verdünnung d. Keimsuspension	Histoacryl-Ampulle	Histoacryl-Spray	Calxyl	Dropsin	Paladur	Palakav
1. Diffusionszeit 4 Std.	n	II= 2	II= 1	II= 3	II= 1	0	0
	n/10	II= 2	II= 1	II= 3	II= 2	0	0
	n/100	II= 3	II= 2	II= 3	II= 2	0	0
2. Diffusionszeit 4 Std.	n	II= 2	II= 1	II= 2	II= 1	0	0
	n/10	II= 4	II= 1	II= 3	II= 1	0	0
	n/100	II= 5	II= 2	II= 4	II= 2	0	0
3. Diffusionszeit 24 Std.	n	II= 2	II= 1	II= 3	II= 1	0	0
	n/10	II= 3	II= 2	II= 4	II= 1	0	0
	n/100	II= 2	II= 2	II= 4	II= 2	0	0
4. Diffusionszeit 24 Std.	n	II= 2	II= 1	II= 3	II= 1	0	0
	n/10	II= 3	II= 2	II= 3	II= 2	0	0
	n/100	II= 3	II= 2	II= 4	II= 2	0	0

Legende zu Tab. 4: siehe Tab. 2

Tab. 5 Staphylococcus albus

Versuche	Verdünnung d. Keimsuspension	Histoacryl-Ampulle	Histoacryl-Spray	Calxyl	Dropsin	Paladur	Palakav
1. Diffusionszeit 4 Std.	n	I = 1	I = 1	I = 3	II= 2	0	0
	n/10	I = 1	I = 1	I = 3	II= 2	0	0
	n/100	I = 6	I = 2	I = 4	II= 2	0	0
2. Diffusionszeit 4 Std.	n	I = 4	I = 4	I = 3	II= 2	0	0
	n/10	I = 6	I = 5	I = 5	II= 2	0	0
	n/100	I = 8	I = 7	I = 6	II= 3	0	0
3. Diffusionszeit 24 Std.	n	I = 2	I = 2	I = 3	II= 2	0	0
	n/10	I = 3	I = 3	I = 4	II= 2	0	0
	n/100	I = 9	I = 5	I = 5	II= 2	0	0
4. Diffusionszeit 24 Std.	n	I = 4	I = 3	I = 4	II= 1	0	0
	n/10	I = 7	I = 4	I = 5	II= 1	0	0
	n/100	I =10	I = 4	I = 5	II= 1	0	0

Legende zu Tab. 5: siehe Tab. 2

Tab. 6: Staphylococcus aureus

Versuche	Verdünnung d. Keimsuspension	Histoacryl-Ampulle	Histoacryl-Spray	Calxyl	Dropsin	Paladur	Palakav
1. Diffusionszeit 4 Std.	n	I = 2	I = 2	I = 5	I = 2	0	0
	n/10	I = 3	I = 2	I = 5	I = 3	0	0
	n/100	I = 3	I = 2	I = 5	I = 3	0	0
2. Diffusionszeit 4 Std.	n	I = 7	I = 3	I = 4	I = 4	0	0
	n/10	I = 7	I = 3	I = 4	I = 3	0	0
	n/100	I = 7	I = 4	I = 4	I = 5	0	0
3. Diffusionszeit 24 Std.	n	I =10	I = 2	I = 3	I = 2	0	0
	n/10	I =10	I = 2	I = 3	I = 3	0	0
	n/100	I =10	I = 5	I = 4	I = 4	0	0
4. Diffusionszeit 24 Std.	n	I = 7	I = 3	I = 4	I = 2	0	0
	n/10	I = 9	I = 2	I = 5	I = 2	0	0
	n/100	I =10	I = 5	I = 6	I = 3	0	0

Legende zu Tab. 6: siehe Tab. 2

Tab. 7: Sarcina ventriculi

Versuche	Verdünnung d. Keimsuspension	Histoacryl-Ampulle	Histoacryl-Spray	Calxyl	Dropsin	Paladur	Palakav
1. Diffusionszeit 4 Std.	n	I = 3	I = 3	I = 3	I = 1	0	0
	n/10	I = 3	I = 3	I = 4	I = 1	0	0
	n/100	I = 3	I = 3	I = 4	I = 2	0	0
2. Diffusionszeit 4 Std.	n	I = 2	I = 2	I = 3	I = 1	0	0
	n/10	I = 2	I = 3	I = 3	I = 2	0	0
	n/100	I = 4	I = 3	I = 5	I = 2	0	0
3. Diffusionszeit 24 Std.	n	I = 4	I = 2	I = 3	I = 1	0	0
	n/10	I =10	I = 3	I = 4	I = 2	0	0
	n/100	I = 6	I = 4	I = 5	I = 3	0	0
4. Diffusionszeit 24 Std.	n	I = 5	I = 2	I = 3	I = 2	0	0
	n/10	I = 6	I = 2	I = 3	I = 2	0	0
	n/100	I = 7	I = 3	I = 4	I = 3	0	0

Legende zu Tab. 7: siehe Tab. 2

Tab. 8: Neisseria catarrhalis

Versuche	Verdünnung d. Keimsuspension	Histoacryl-Ampulle	Histoacryl-Spray	Calxyl	Dropsin	Paladur	Palakav
1. Diffusionszeit 4 Std.	n	I = 2	I = 2	I = 3	I = 1	0	0
	n/10	I = 5	I = 3	I = 4	I = 2	0	0
	n/100	I = 6	I = 3	I = 5	I = 3	0	0
2. Diffusionszeit 4 Std.	n	I = 7	I = 4	I = 3	I = 2	0	0
	n/10	I =12	I = 5	I = 3	I = 2	0	0
	n/100	I =13	I = 6	I = 4	I = 5	0	0
3. Diffusionszeit 24 Std.	n	I = 6	I = 3	I = 4	I = 2	0	0
	n/10	I =14	I = 6	I = 5	I = 3	0	0
	n/100	I =15	I = 8	I = 5	I = 4	0	0
4. Diffusionszeit 24 Std.	n	I = 5	I = 2	I = 4	I = 1	0	0
	n/10	I =10	I = 3	I = 5	I = 3	0	0
	n/100	I =12	I = 6	I = 5	I = 4	0	0

Legende zu Tab. 8: siehe Tab. 2

Tab. 9: Hämolysierende Streptokokken

Versuche	Verdünnung d. Keimsuspension	Histoacryl-Ampulle	Histoacryl-Spray	Calxyl	Dropsin	Paladur	Palakav
1. Diffusionszeit 4 Std.	n	I = 4	I = 5	I = 7	I = 5	0	0
	n/10	I = 6	I = 7	I = 8	I = 5	0	0
	n/100	I = 7	I = 8	I = 9	I = 6	0	0
2. Diffusionszeit 4 Std.	n	I = 6	I = 5	I = 7	I = 4	0	0
	n/10	I = 8	I = 8	I = 8	I = 6	0	0
	n/100	I = 9	I = 9	I = 8	I = 7	0	0
3. Diffusionszeit 24 Std.	n	I = 6	I = 5	I = 8	I = 5	0	0
	n/10	I = 8	I = 6	I = 9	I = 6	0	0
	n/100	I =10	I = 7	I = 9	I = 7	0	0
4. Diffusionszeit 24 Std.	n	I =10	I = 4	I = 9	I = 5	0	0
	n/10	I =11	I = 6	I =10	I = 7	0	0
	n/100	I =12	I = 7	I =10	I = 7	0	0

Legende zu Tab. 9: siehe Tab. 2

Tab.10: Vergrünende Streptokokken

Versuche	Verdünnung d. Keimsuspension	Histoacryl-Ampulle	Histoacryl-Spray	Calxyl	Dropsin	Paladur	Palakav
1. Diffusionszeit 4 Std.	n	I = 6	I = 4	I = 5	I = 5	0	0
	n/10	I = 8	I = 5	I = 6	I = 7	0	0
	n/100	I = 9	I = 7	I = 7	I = 8	0	0
2. Diffusionszeit 4 Std.	n	I = 7	I = 6	I = 5	I = 7	0	0
	n/10	I =15	I = 8	I = 6	I = 9	0	0
	n/100	I =16	I = 7	I = 6	I =10	0	0
3. Diffusionszeit 24 Std.	n	I =12	I = 5	I = 5	I = 4	0	0
	n/10	I =15	I = 6	I = 6	I = 4	0	0
	n/100	I =16	I = 6	I = 6	I = 5	0	0
4. Diffusionszeit 24 Std.	n	I =10	I = 8	I = 4	I = 3	0	0
	n/10	I =12	I = 8	I = 5	I = 4	0	0
	n/100	I =13	I =10	I = 6	I = 5	0	0

Legende zu Tab.10: siehe Tab. 2

Tab.11: Streptococcus lactis

Versuche	Verdünnung d. Keimsuspension	Histoacryl-Ampulle	Histoacryl-Spray	Calxyl	Dropsin	Paladur	Palakav
1. Diffusionszeit 4 Std.	n	I = 3	I = 1	I = 5	II= 1	0	0
	n/10	I = 3	I = 2	I = 6	II= 2	0	0
	n/100	I = 4	I = 3	I = 6	II= 2	0	0
2. Diffusionszeit 4 Std.	n	I = 5	I = 4	I = 4	II= 2	0	0
	n/10	I = 6	I = 5	I = 5	II= 2	0	0
	n/100	I = 7	I = 6	I = 5	II= 2	0	0
3. Diffusionszeit 24 Std.	n	I = 5	I = 2	I = 5	II= 1	0	0
	n/10	I = 5	I = 5	I = 5	II= 1	0	0
	n/100	I =10	I = 6	I = 6	II= 1	0	0
4. Diffusionszeit 24 Std.	n	I = 5	I = 5	I = 5	II= 1	0	0
	n/10	I = 6	I = 7	I = 5	II= 1	0	0
	n/100	I = 7	I = 8	I = 6	II= 2	0	0

Legende zu Tab.11: siehe Tab. 2

Tab.12: . Lactobacillus bifidus

Versuche	Verdünnung d. Keimsuspension	Histoacryl-Ampulle	Histoacryl-Spray	Calxyl	Dropsin	Paladur	Palakav
1. Diffusionszeit 4 Std.	n	I = 5	I = 7	I = 7	I = 6	0	0
	n/10	I = 8	I = 8	I = 9	I = 8	0	0
	n/100	I = 8	I =10	I =10	I =10	0	0
2. Diffusionszeit 4 Std.	n	I =10	I = 8	I = 8	I = 5	0	0
	n/10	I =10	I = 8	I = 9	I = 6	0	0
	n/100	I =11	I = 9	I =10	I = 9	0	0
3. Diffusionszeit 24 Std.	n	I = 7	I = 8	I = 6	I = 6	0	0
	n/10	I = 7	I = 9	I = 7	I = 8	0	0
	n/100	I =11	I = 9	I = 9	I = 9	0	0
4. Diffusionszeit 24 Std.	n	I = 8	I = 9	I = 6	I = 6	0	0
	n/10	I = 9	I =10	I = 8	I = 8	0	0
	n/100	I =10	I =11	I =11	I =10	0	0

Legende zu Tab.12: siehe Tab. 2

Tab.13: Bacillus subtilis

Versuche	Verdünnung d. Keimsuspension	Histoacryl-Ampulle	Histoacryl-Spray	Calxyl	Dropsin	Paladur	Palakav
1. Diffusionszeit 4 Std.	n	I = 7	I = 5	II= 3	II= 3	0	0
	n/10	I = 8	I = 5	II= 3	II= 3	0	0
	n/100	I = 8	I = 6	II= 4	II= 4	0	0
2. Diffusionszeit 4 Std.	n	I = 8	I = 5	II= 3	II= 3	0	0
	n/10	I =10	I = 6	II= 4	II= 3	0	0
	n/100	I =12	I = 6	II= 5	II= 5	0	0
3. Diffusionszeit 24 Std.	n	I = 5	I = 5	II= 5	II= 5	0	0
	n/10	I = 6	I = 5	II= 5	II= 5	0	0
	n/100	I = 8	I = 6	II= 5	II= 5	0	0
4. Diffusionszeit 24 Std.	n	I = 5	I = 5	II= 3	II= 3	0	0
	n/10	I = 9	I = 6	II= 3	II= 3	0	0
	n/100	I = 9	I = 7	II= 4	II= 4	0	0

Legende zu Tab.13: siehe Tab. 2

Tab.14: Candida albicans

Versuche	Verdünnung d. Keimsuspension	Histoacryl-Ampulle	Histoacryl-Spray	Calxyl	Dropsin	Paladur	Palakav
1. Diffusionszeit 4 Std.	n	I = 4	I = 2	I = 1	II= 1	0	0
	n/10	I = 4	I = 2	I = 1	II= 1	0	0
	n/100	I = 5	I = 2	I = 7	II= 1	0	0
2. Diffusionszeit 4 Std.	n	I = 3	I = 2	I = 1	II= 1	0	0
	n/10	I = 3	I = 2	I = 3	II= 2	0	0
	n/100	I = 5	I = 2	I = 7	II= 2	0	0
3. Diffusionszeit 24 Std.	n	I = 1	I = 1	I = 2	II= 1	0	0
	n/10	I = 2	I = 2	I = 2	II= 1	0	0
	n/100	I = 3	I = 3	I = 3	II= 1	0	0
4. Diffusionszeit 24 Std.	n	I = 2	I = 1	I = 1	II= 1	0	0
	n/10	I = 1	I = 1	I = 1	II= 1	0	0
	n/100	I = 2	I = 2	I = 5	II= 2	0	0

Legende zu Tab.14: siehe Tab. 2

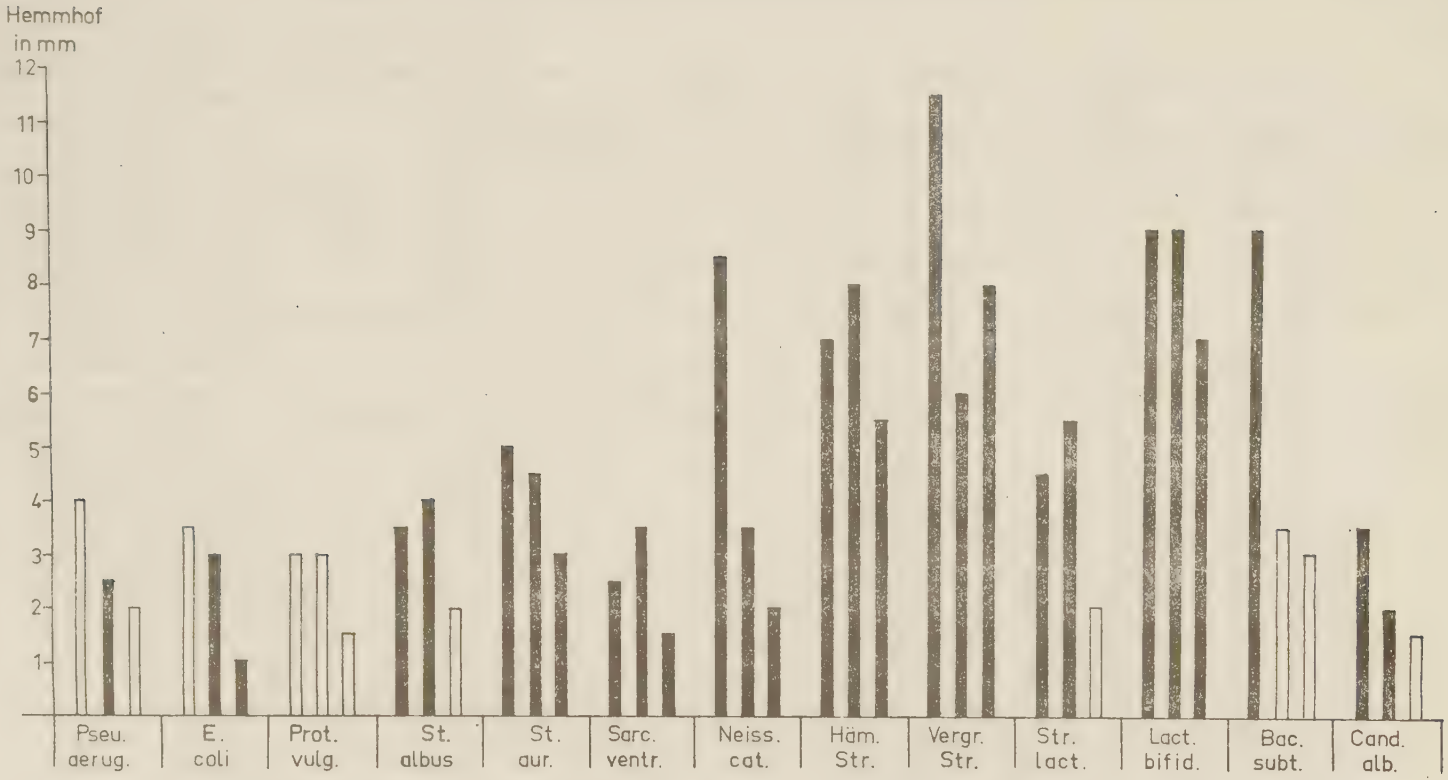


Abb. 1: Graphische Darstellung der Hemmhofgrößen

Die an der Abszisse eingezeichneten drei Säulen für jeden Testkeim stellen die Hemmhofgrößen von HISTOACRYL-N, CALXYL und DROPSIN dar. Schwarze Säulen zeigen Bakterizidie, weiße Bakteriostase an.

Resultate des 2. Versuchs:

Beim zweiten Lochplattentest waren die Ergebnisse wie folgt: Alle getesteten Gewebekleber waren gegenüber den dreizehn Mikroorganismen wirksam.

Die Unterscheidung zwischen dem bakteriziden und dem bakteriostatischen Effekt wurde gemäß der Versuchsanordnung im ersten Lochplattentest angewandt.

Für jeden Testkeim und jeden Gewebekleber wurde die Größe der Hemmhöfe, gemessen vom Rand der Ausstanzung bis zum Beginn des dichten Bakterienrasens, tabellarisch erfaßt (Tab.15 - 16).

Tab.15: Resultate des zweiten Lochplattentests

Testkeime	Histoacryl-N		Mirabond		Coapt		Cyanodont	
	Doppelversuche		Doppelversuche		Doppelversuche		Doppelversuche	
Pseudomonas aeruginosa	II= 4	II= 4	II= 2	II= 2	II= 1	II= 1	I = 1	I = 1
Escherichia coli	II= 4	II= 3	I= 5	I= 5	II= 1	II= 1	I = 1	I = 1
Proteus vulgaris	II= 3	II= 3	I= 7	I= 9	II= 1	II= 1	II= 4	II= 2
Staphylococcus albus	I = 3	I = 4	I= 7	I= 8	I = 9	I = 9	II= 1	II= 1
Staphylococcus aureus	I = 5	I = 5	I= 7	I= 9	I = 3	I = 4	I = 4	I = 3
Sarcina ventriculi	I = 3	I = 2	II= 1	II= 2	II= 2	II= 2	I = 2	I = 2
Neisseria catarrhalis	I = 8	I = 9	I = 8	I = 8	I = 9	I = 9	I = 1	I = 1
Hämol. Streptokokken	I = 7	I = 7	I = 5	I = 6	I = 4	I = 5	I = 2	I = 3
Vergrün. Streptokokken	I =11	I =12	I = 8	I = 8	I =11	I =10	I = 1	I = 1
Streptococcus lactis	I = 4	I = 4	I = 8	I = 8	I = 9	I = 9	I = 4	I = 5
Lactobacillus bifidus	I = 9	I = 9	I = 2	I = 2	I = 2	I = 3	I = 5	I = 4
Bacillus subtilis	I = 9	I = 9	I = 5	I = 5	I = 5	I = 4	II= 1	II= 1
Candida albicans	I = 4	I = 3	II= 3	II= 2	I = 1	I = 1	I = 1	I = 1

Tab.15 zeigt die Größen der in mm gemessenen Hemmhöfe; I= Bakterizidie; II= Bakteriostase.

Tab.16: Resultate des zweiten Lochplattentests

Testkeime	Gelatine-Resorcin-Kleber		Gelatine-Resorcin-Mischung		Glutaraldehyd-Lösung			
	Doppelversuche		Doppelversuche		Doppelversuche			
Pseudomonas aeruginosa	I =11	I =12	I =11	I =11	I =10	I =10		
Escherichia coli	I =12	I =12	I =11	I =11	I =12	I =12		
Proteus vulgaris	I =10	I = 8	I =10	I =10	I = 9	I = 9		
Staphylococcus albus	I =10	I = 9	I = 8	I = 8	I = 8	I =10		
Staphylococcus aureus	I = 9	I = 9	I = 8	I =10	I = 8	I = 8		
Sarcina ventriculi	I =10	I =11	I =10	I =10	I = 8	I =10		
Neisseria catarrhalis	I =15	I =14	I = 9	I = 9	I =11	I =11		
Hämol. Streptokokken	I =10	I =11	I =10	I =10	I =10	I =10		
Vergrün. Streptokokken	I =10	I =10	I =10	I =10	I =11	I =11		
Streptococcus lactis	I =11	I =11	I =10	I =10	I =10	I =10		
Lactobacillus bifidus	I = 5	I = 5	I = 4	I = 4	I = 5	I = 5		
Bacillus subtilis	I =10	I =12	I =10	I =12	I = 9	I =11		
Candida albicans	II=11	II=11	II=10	II=10	II=10	II=10		

Im zweiten Versuch konnte der antibakterielle Effekt von HISTO-ACRYL des ersten Testes bestätigt werden.

Das Produkt MIRABOND wirkte auf Pseudomonas aeruginosa, Sarcina ventriculi und Candida albicans bakterienhemmend, während es alle übrigen Teststämme abtötete.

Eine bakterizide Wirkung des Gewebeklebers COAPT konnte außer bei Pseudomonas aeruginosa, E. coli, Proteus vulgaris und Sarcina ventriculi, wo er bakteriostatisch wirkte, festgestellt werden.

Die vierte Testsubstanz CYANODONT wirkte auf Proteus vulgaris, St.albus und B. subtilis hemmend, während sie die restlichen Erreger abtötete.

Im großen und ganzen ist der Effekt der Gewebekleber HISTOACRYL, MIRABOND und COAPT gegenüber Bakterien gleichgroß. Den geringsten Einfluß auf die Erreger zeigte CYANODONT.

Alle Testsubstanzen aber wurden in antibakterieller Hinsicht von dem GELATINE-RESORCIN-KLEBER überflügelt. Mit den nach Vorschrift aufgetragenen zwei Komponenten, sowie mit jedem Anteil allein, konnten gleichgroße Hemmhöfe erzeugt werden, in denen außer bei Candida albicans die Bakterien abgetötet wurden.

Zur Gesamtübersicht ist auch dieses Testergebnis in einem Schaubild erfaßt (Abb. 2). Die Mittelwerte der Hemmhofdurchmesser der der Doppelversuche bei einer Diffusionsdauer von 4 Stunden bei + 4° C.

und einer Keimkonzentration von $\frac{n}{10}$ sind hier berücksichtigt. Auf die Darstellung der Werte der einzelnen Anteile des Zweikomponenten-Klebers konnte aus bereits erwähnten Gründen verzichtet werden.

Legende zu Abb. 2:

Die an der Abszisse eingezeichneten fünf Säulen für jeden Bakterienstamm stellen die Hemmhofgrößen der Testsubstanzen in der Reihenfolge HISTOACRYL-N, MIRABOND, COAPT, CYANODONT und GELATINE-RESORCIN-KLEBER dar. Schwarze Säulen symbolisieren einen bakteriziden, weiße einen bakteriostatischen Effekt.

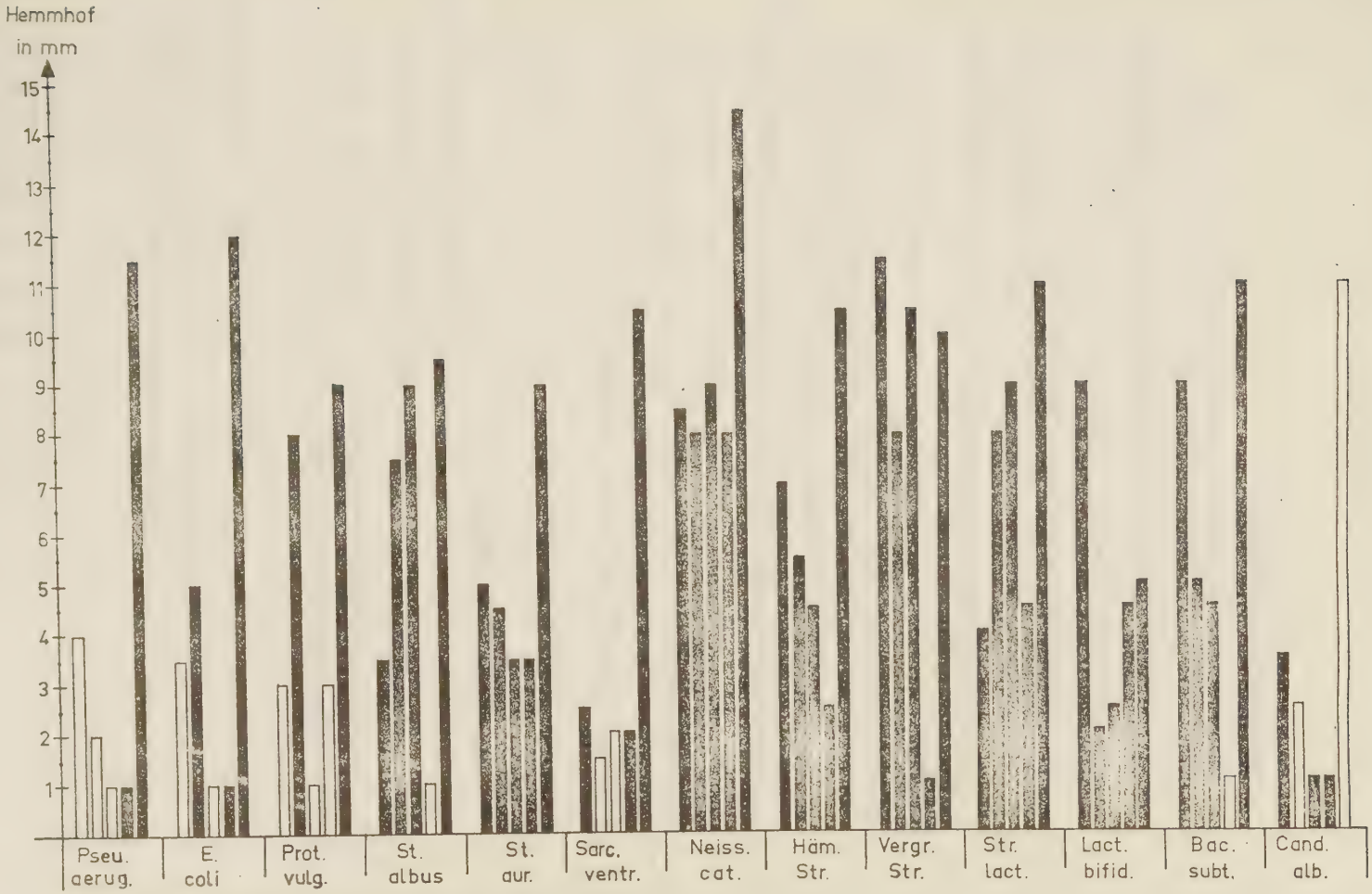


Abb. 2: Graphische Darstellung der Hemmhofgrößen

Resultate des 3. Versuchs:

Beim dritten Versuch konnte folgendes Ergebnis erzielt werden:

In der ersten Variation des Reihenverdünnungstestes hemmten HISTOACRYL-N, HISTOACRYL-Spray, MIRABOND, COAPT und CYANODONT nur in der Ausgangssuspension (a) das Wachstum von Staphylococcus aureus, während die Glutaraldehyd-Lösung des Zweikomponenten-Klebers noch in der Verdünnung der Ausgangssuspension um $\frac{1}{5}$ bakterizid wirksam war.

Bei Neisseria catarrhalis konnte die hemmende Wirkung der Glutaraldehyd-Lösung noch in der Verdünnung $\frac{a}{5}$ festgestellt werden, die übrigen Substanzen töteten den Erreger nur in der Ausgangssuspension ab.

Die Ergebnisse der Auswertungen nach 24-, 48- und 72-stündiger Bebrütungszeit ließen keinen Unterschied erkennen.

Resultate des 4. Versuchs:

Während im dritten Versuch eine Extraktverdünnung vorgenommen wurde, d.h., es konnten nur die Stoffe verdünnt werden, die die sofort polymerisierenden Gewebekleber in die Bouillon abgaben, fand im vierten Test eine Verdünnung der gelösten Testsubstanzen statt.

HISTOACRYL in Ampullen- und Sprayform, MIRABOND, COAPT und CYANODONT zeigten bei Staphylococcus aureus in der Verdünnung der Ausgangslösung (b) um $\frac{1}{5}$ die Wachstumshemmung, während die Glutaraldehyd-

Lösung noch in der Verdünnung $\frac{b}{25}$ den Erreger abtötete.

Bei Neisseria catarrhalis wirkten alle Gewebekleber, außer der Glutaraldehyd-Lösung, die in der Verdünnung $\frac{b}{125}$ noch wirksam war, bei $\frac{b}{25}$ bakterizid.

Auch hier waren die Resultate nach ein-, zwei- und dreitägiger Bebrütung gleich.

Die Wachstumskontrolle der beiden Testkeime war positiv; der Kontrollversuch mit Aceton zeigte, daß das Lösungsmittel keinen vermehrungshemmenden Einfluß ausübte.

Die minimale Hemmkonzentration (M H K) der Cyano-acrylate bei Staphylococcus aureus betrug 6 mg/ml, die der Glutaraldehyd-Lösung 1,2 mg/ml. Bei Neisseria catarrhalis betrug die MHK für die Glutaraldehyd-Lösung 0,24 mg/ml, für die übrigen Gewebekleber 1,2 mg/ml.

Die Resultate des dritten und vierten Versuchs wurden ebenfalls tabellarisch erfaßt (Tab.17 - 18).

Tab.17: Ergebnisse der Reihenverdünnungstests

Testsubstanzen	Testkeime	Suspension a bzw. Lösung b	Verdünnungen 0	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{25}$	$\frac{1}{125}$	$\frac{1}{625}$	$\frac{1}{3125}$
Histoacryl-N	St. aureus	a	0	-	+	+	+	+
		b	/	0	-	+	+	+
	Neisseria catarrhalis	a	0	-	+	+	+	+
		b	/	0	0	-	+	+
Histoacryl-Spray	St. aureus	a	0	-	+	+	+	+
		b	/	0	-	+	+	+
	Neisseria catarrhalis	a	0	-	+	+	+	+
		b	/	0	0	-	+	+
Mirabond	St. aureus	a	0	-	+	+	+	+
		b	/	0	-	+	+	+
	Neisseria catarrhalis	a	0	-	+	+	+	+
		b	/	0	0	-	+	+

Tab.17 zeigt die Wachstumshemmung der beiden Testkeime in den verschiedenen Verdünnungen der Ausgangssuspension (a) bzw. der Lösung (b) an. Dabei bedeutet kein Bakterienwachstum (0), geringes Wachstum (-), starkes Wachstum (+). Das Zeichen (/) symbolisiert die unbeimpfte Ausgangslösung (b) ohne Bouillon.

Tab.18: Ergebnisse der Reihenverdünnungstests

Testsubstanzen	Testkeime	Suspension a bzw. Lösung b	Verdünnungen 0	1/5	1/25	1/125	1/625	1/3125
Coapt	St. aureus	a	0	-	+	+	+	+
		b	⁄.	0	-	+	+	+
	Neisseria catarrhalis	a	0	-	+	+	+	+
		b	⁄.	0	0	-	+	+
Cyanodont	St. aureus	a	0	-	+	+	+	+
		b	⁄.	0	-	+	+	+
	Neisseria catarrhalis	a	0	-	+	+	+	+
		b	⁄.	0	0	-	+	+
Glutar-Aldehyd-Lösung	St. aureus	a	0	0	-	+	+	+
		b	⁄.	0	0	-	+	+
	Neisseria catarrhalis	a	0	0	-	+	+	+
		b	⁄.	0	0	0	-	+

Legende zu Tab.18: siehe Tab.17

IV. Vergleich der eigenen Befunde mit der gegenwärtigen Literatur

Im Schrifttum liegen bisher nur spärliche und teilweise wenig eindeutig überschaubare Berichte über den Effekt der Gewebekleber gegenüber Bakterien vor.

Größere Experimente über die antibakterielle Wirkung von Wundklebern wurden 1963 von AWE, ROBERTS und BRAUNWALD angestellt. Mit Hilfe ihrer Sterilitätstests konnte die Sterilität des Methyl-cyanoacrylates nachgewiesen werden. Bei den Hemmtests wurden Mueller-Hinton-Platten mit hämolysierenden Staphylococcus aureus und Agarplatten mit Bacillus species, Escherichia coli, Proteus species und Pseudomonas species überimpft. Die Mikroorganismen spatelte man zuerst auf der Nährbodenoberfläche aus, dann wurde ein Tropfen Methyl-cyanoacrylat auf die Mitte der Platten getropft, die darauf bei 37° C. bebrütet wurden. Die auf diese Weise erzeugten Hemmhöfe waren bei St. aureus 22 mm, bei Bacillus species 23 mm, bei Escherichia coli 22 mm und bei Proteus species sowie bei Pseudomonas species je 17 mm groß.

In eigenen Versuchen unter gleichen Bedingungen konnten auch nach mehrmaliger Wiederholung mit verschiedenen Gewebeklebersorten und -mengen diese Hemmhofgrößen nicht erzielt werden.

DAMMANN, der 1968 einige Gewebekleber in der Unfallchirurgie anwandte, bestätigt ebenfalls die antibakterielle Eigenschaft der Cyano-acrylate. Er berichtet, daß keine der von ihm geklebten Wunden wegen Infektionen oder gar akuter Eiterung wieder

habe geöffnet werden müssen.
Um die bakterienhemmenden Eigenschaften von Alkyl-cyanoacrylaten zu testen, haben im Jahre 1961 FASSET und Mitarbeiter den Gewebekleber mit Escherichia coli, Aerobacter aerogenes, Staphylococcus aureus und Bac. stearothermophilus in großen Mengen infiziert. Nach dem Auftragen des verunreinigten Klebstoffes auf Agarplatten zeigte sich, daß alle Bakterien abgetötet waren.

HEISS, GUTHY und BECKER berichten 1964 über Versuche mit Bakt. proteus, bei denen ein Tropfen Cyano-acrylat auf einen mit dem Erreger beimpften Nährboden gegeben wurde. Es ließ sich auch hier eine Hemmzone erzeugen.

Weiter wird im Jahre 1968 von HEISS berichtet, daß nach Auftropfen einer unbestimmten Menge Methyl- und Butyl-cyanoacrylat auf einer mit Staphylococcus aureus infizierten Agar-Platte sich breite Hemmzonen zeigten, wobei die bakteriziden Eigenschaften bei dem Methyl-Kleber am stärksten ausgeprägt waren. Was die Wirkung des Butylesters gegenüber St.aureus betrifft, so kann dieses Ergebnis durch eigene Resultate erhärtet werden.

KAPLAN und BORCHARDT stellten 1966 Versuche an, die in vivo die antibakteriellen Eigenschaften von Methyl-cyanoacrylat in experimentell infizierten Wunden bestimmen sollten. Sie legten je zwei parallele, gleichgroße Inzisionen in die Haut und das subkutane Gewebe auf dem Rücken von Meerschweinchen. Die Inzisionen beimpften sie mit einer

bestimmten Menge Staphylococcus aureus, dann wurde der eine Hautschnitt bei jedem Tier vernäht, während der andere mit Methyl-cyanoacrylat geklebt wurde. Die Inzisionen beobachtete man sechs Tage lang nach klinischen Gesichtspunkten auf Wundinfektionen hin. Die Mehrzahl der Wunden wurden am sechsten postoperativen Tag eröffnet und mit sterilen Wattetupfern ausgewischt, die darauf auf Nährböden ausgestrichen wurden.

An Hand dieser Versuchsreihen konnten KAPLAN und BORCHARDT keine eindeutige Klärung der Frage erzielen, bei welcher der beiden Methoden der Wundversorgung Infektionssymptome häufiger auftraten. Daß es nicht gelungen war, dem Gewebekleber einen bakterienhemmenden Einfluß in experimentell infizierten Wunden nachzuweisen, führen sie vor allem auf das Aufplatzen vieler geklebter Inzisionen zurück.

Bei den Experimenten von ROLLE (1967) wurde das Verhalten von Methyl-, Athyl-, Butyl- und Isobutyl-cyanoacrylat gegenüber Staphylococcus aureus im Zylinder-Agarplattentest untersucht. Hierzu ließ er 4 ml eines mit St.aureus beimpften und verflüssigten Agargels in einer Petrischale erhärten und setzte einen mit jeweils drei Tropfen Gewebekleber gefüllten Glaszylinder auf den Nährboden. Auf diese Weise konnten Hemmhöfe erzeugt werden, deren Größe mit zunehmender Länge der Seitenkette abnahm. In dem Bericht von ROLLE,wie ebenfalls in dem vorherigen Schrifttum,fehlt eine spezielle Unterscheidung zwischen dem bakteriziden und bakteriostatischen Effekt.

V. Diskussion der Ergebnisse mit Schlußfolgerung

Auch nach vollständiger Zahnentwicklung behält das Pulpagewebe weiterhin, wenn auch mit abnehmender Tendenz, die Fähigkeit der Dentinbildung bei. Diese Anlagerung von Sekundärdentin als Selbstschutzfunktion wird im Verfahren der direkten Überkappung genutzt, indem die reparatorischen Fähigkeiten der Pulpa gleichzeitig durch eine geeignete Medikation unterstützt werden. In der Literatur wurden bisher als Wundverbandmittel nur Präparate auf Calciumhydroxid-Basis empfohlen, wie zum Beispiel CALXYL.

Aufgrund der umfangreichen Untersuchungen von SCHMEISSNER (1970) konnte nun dem Verfahren der direkten Überkappung ein neuer Weg eröffnet werden: die Versorgung der Pulpawunde mit einem Gewebekleber.

Während zum Studium von Einzelheiten auf die Arbeit des vorgenannten Autors [14] verwiesen werden darf, soll hier zusammenfassend dokumentiert werden: alle Pulpen der Hundezähne, überdimensioniert im Experiment angeschnitten, blieben vital und zeigten mehr oder weniger vollständige Dentinbrücken-Bildungen innerhalb der Beobachtungszeit bis zu 6 Monaten ohne negative Tendenz. Die klinische Heilung konnte bisher an 17 menschlichen Zähnen nach direktem Überkappen mit HISTOACRYL-N in einem Zeitraum bis zu 5 Jahren nachgewiesen werden. Von einem gleich günstigen Resultat nach Überkappen menschlicher Zähne mit einem

Isobutyl-cyanoacrylat, histologisch erhärtet, berichteten jüngst BERKMAN, CUCOLO, LEVIN und BRUNELLE (1971).

Es muß vermutet werden, daß diese gunstigen Heilungstendenzen der Pulpen nach Uberkappen mit einem Gewebekleber auch mit einer starken bakteriziden bzw. bakteriostatischen Wirksamkeit dieses Materials in Zusammenhang stehen. So hat sich auch in den vorher erwähnten eigenen Versuchen herausgestellt, daß den getesteten Wundklebern eine antibakterielle Wirkung zuerkannt werden kann.

Der erste Test zeigte die deutliche Hemmwirkung des Butylklebers HISTOACRYL gegenüber dreizehn verschiedenen Mikroorganismen auf.

Insgesamt gesehen ist der Gewebekleber auf Cyano-acrylester-Basis in seinem antibakteriellen Effekt eindeutig und höher zu bewerten als die Vergleichssubstanzen aus der Reihe der Überkappungsmittel auf Calciumhydroxid-Basis.

Der zweite Versuch beweist die hemmende Wirkung anderer bis jetzt bekannter Wundkleber. Die Behauptung, daß mit der aufsteigenden homologen Reihe der Cyanc-acrylsäureester sich dieser Effekt vergrößere, konnte nicht bestätigt werden. Auffallend ist, daß kein Cyano-acrylat die starke antibakterielle Wirkung des GELATINE-RESORCIN-KLEBERS erreichte.

Im dritten Versuch, der Extraktverdünnung, vermochten HISTOACRYL

in Ampullen- und Sprayform, MIRABOND, COAPT und CYANODONT die Testkeime Staphylococcus aureus und Neisseria catarrhalis nur in der Ausgangssuspension abzutöten, während die Glutaraldehyd-Lösung ihre starke bakterizide Wirkung noch in der Verdünnung um $\frac{1}{5}$ entfaltete.

Im vierten Versuch konnte festgestellt werden, daß die Glutaraldehyd-Lösung noch in der Verdünnung $\frac{b}{25}$ den Erreger Staphylococcus aureus abtötete, während das den restlichen Substanzen nur bis zur Ausgangslösungsverdünnung um $\frac{1}{5}$ gelang. Bei Neisseria catarrhalis war die starke Hemmwirkung des Zweikomponenten-Klebers noch auffälliger, weil dieser Erreger im allgemeinen empfindlicher reagiert.

Insgesamt gesehen erweisen sich die getesteten Gewebekleber zum Beeinflussen einer Oberflächeninfektion, sei es an der Pulpa oder an einer Wunde, als geeignet. Da dem Präparat HISTOACRYL neben seinen anderen günstigen Eigenschaften bei der direkten Pulpenüberkappung nun auch eine antibakterielle Wirkung zuerkannt werden kann, ist die weitere klinische Erprobung dieses Butylesters der Cyano-acrylsäure als Überkappungsmittel gerechtfertigt.

VI. Zusammenfassung:

Der Gewebekleber HISTOACRYL, ein Cyano-acrylsäure-butylester, wurde auf seine bakterienhemmende Wirkung hin untersucht. Im ersten Test dienten als Vergleichssubstanzen die Calciumhydroxidpräparate CALXYL und DROPSIN, sowie die Methyl-acrylmethylester PALADUR und PALAKAV. Es wurden 13 Testkeime ausgewählt, die in der Mundflora vorkommen können. Die Untersuchung erfolgte im Lochplattentest. Bei 10 Keimen wirkte HISTOACRYL bakterizid, bei 3 Bakterienstämmen nur bakteriostatisch. Aufgrund seiner Bakterizidie bzw. Bakteriostase und bezüglich der Hemmhofgrößen ist HISTOACRYL höher zu bewerten als die verglichenen Präparate CALXYL und DROPSIN. PALADUR und PALAKAV zeigten keine bakterienhemmende Wirkung.

Im zweiten Lochplattentest wurde der antibakterielle Effekt von HISTOACRYL mit dem anderer Gewebekleber untersucht. Als Vergleichssubstanzen dienten der Äthylester der Cyano-acrylsäure MIRABOND, der Isobutylester COAPT, der durch Schwefelsäureanhydrid stabilisierte Cyano-acrylsäure-butylester CYANODONT sowie der aus zwei Komponenten bestehende GELATINE-RESORCIN-KLEBER. Als Testkeime wurden die gleichen 13 Mikroorganismen verwendet wie im ersten Versuch. Dabei konnte gezeigt werden, daß alle Testsubstanzen gegenüber Bakterien wirksam waren. Die größten Hemmhöfe ließen sich mit dem Zweikomponenten-Kleber erzielen.

Die dritte Untersuchung erfolgte im Reihenverdünnungstest, bei dem eine aus 10 Tropfen Testsubstanz und 5 ml steriler Bouillon hergestellte Ausgangssuspension in einer Reihe weiter verdünnt und anschließend mit 0,1 ml einer Suspension von Staphylococcus aureus bzw. Neisseria catarrhalis beimpft und dann bebrütet wurde. Die Vergleichssubstanzen zu dem Präparat HISTOACRYL waren MIRABOND, COAPT, CYANODCNT sowie die eine Komponente des GELATINE-RESORCIN-KLEBERS, die Glutaraldehyd-Lösung. In Vorversuchen hatte sich gezeigt, daß die nach Vorschrift aufgetragenen zwei Komponenten, sowie jeder Anteil allein, gleichstark gegen Bakterien wirksam waren. Um die Schwierigkeiten in der Applikationstechnik zu umgehen, wurde bei dieser Testmethode nur auf die Glutaraldehyd-Lösung zurückgegriffen. Außer der Lösung, die die beiden Testkeime noch in der Verdünnung der Ausgangssuspension um $\frac{1}{5}$ abtötete, wirkten alle übrigen Wundkleber nur in der Ausgangssuspension bakterizid.

Im vierten Versuch wurde ebenfalls die Reihenverdünnungsmethode angewandt, bei der die Ausgangslösung aus 10 Tropfen in 5 ml Aceton gelöstem Gewebekleber hergestellt und in einer mit steriler Bouillon gefüllten Teströhrchenreihe weiter verdünnt wurde. Dabei konnte festgestellt werden, daß die minimale Hemmkonzentration (MHK) der Cyano-acrylate bei Staphylococcus aureus 6 mg/ml und die der Glutaraldehyd-Lösung 1,2 mg/ml betrug. Bei Neisseria catarrhalis lag die MHK für die Lösung bei 0,24 mg/ml, für die übrigen Wundkleber bei 1,2 mg/ml.

Eine antibakterielle Wirkung der getesteten Gewebekleber steht somit fest.

VII. Schrifttum

1. ADAM, W., GROSSGEBAUER, K., GRÜN, L., HEICKEN, K., LAMMERS, TH., LIEBERMEISTER, K., MÜHLENS, K., OSTERTAG, H., PRIMAVESI, C.A., SCHMIDT, B., WAGENER, K und WOHLRAB, R.: Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1969

2. AWE, W.C., ROBERTS, W. und BRAUNWALD, N.S.: Rapidly polymerizing adhesive as a hemostatic agent: Studie of tissue response and bacteriological properties. Surg. 54, 322 (1963)

3. BERKMANN, D., CUCOLO, A., LEVIN, P. und BRUNELLE, J.: Pulpal response to isobutyl cyanoacrylate in human teeth. J. Amer. Dent. Assoc. 83, 140 (1971)

4. CASTAGNOLA, L.: Die Lebenderhaltung der Pulpa in der konservierenden Zahnheilkunde. Carl Hanser Verlag, München 1953

5. DAMMANN, F.: Gewebekleber in der Unfallchirurgie. Med. Mitt. (Melsungen) 42, 652 (1968)

6. FASSET, W.H., RONDABUSH, R.L., Emley, J.C. und GRANLICH, L.B.: Micorbiological growth from Eastman 910 monomer and adhesive. Cohesive news. 1,5 (1961)

7. HEISS, W.H.: Gewebeklebstoffe. Applikation, Eigenschaften und Anwendungsmöglichkeiten Med. Mitt. (Melsungen) 42, 11 1968)

8. HEISS, W.H., GUTHY, E. und BECKER, H.M.: Experimentelle Untersuchungen zum Ersatz der chirurgischen Naht durch Klebstoff. Langenbecks Archiv für klin. Chirurgie. 308, 793 (1964)

9. HOFER, O., REICHENBACH, E., SPRETER VON KREUDENSTEIN, TH. und WANNENMACHER, E.: Lehrbuch der klinischen Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde 2. Johann Ambrosius Barth Verlag, Leipzig 1969)

10. KAPLAN, G. und BORCHART, K.A.: The antibacterial properties of methyl-2-cyanoacrylate in experimentally infected wounds. Plast. reconstr. Surg 38, 507 (1966)

11. LEHMANN, R.A.W., WEST, R.L. und LEONARD, F.: Toxicity of alkyl-2-cyano-acrylates. II. Bacterial growth. Arch. Surg. 93, 447 (1966)

12. SOLLE, ...: Untersuchungen zur bakteriziden Wirkung der Gewebekleber. Klebstoffe in der Chirurgie, Symosium Wien (1967, Verlag der Wiener Medizinischen Akademie.

13. SAUERWEIN, E.: Kortikoide und Pulpa, Dtsch. Zahnärztekal. 27, 60 (1968)

14. SCHMEISSNER, H.: Tierexperimentelle, histologische und klinische Untersuchungen über die Eigenschaft eines Cyano-acrylsäure-butylesters als Wundverband für das Pulpagewebe. Med. Habil.-Schrift, Homburg/Saar 1970

15. SCHMEISSNER, H.: Tierexperimentelle und klinische Untersuchung zur direkten Pulpenüberkappung mit monomerem Kunststoff, Dtsch. zahnärztl. Z. 25, 252 (1970)

16. SCHMEISSNER, H.: Chemische und physikalische Eigenschaften der Cyano-Acrylate. Dtsch. zahnärztl. Z. 25, 907 (1970)

17. SCHMEISSNER, H.: Persönliche Mitteilung

18. WALLHÄUSER, K.H. und SCHMIDT, H.: Sterilisation, Desinfektion, Konservierung, Chemotherapie. G. Thieme Verlag, Stuttgart (1967)

Herrn Professor Dr. med., Dr. phil., Dipl. Chem. W. ZIMMERMANN und Herrn Professor Dr. med. dent. H. SCHMEISSNER danke ich für die Überlassung des Themas und die mir zuteilgewordene Unterstützung.

Herrn Professor Dr. rer. nat. R. SCHWEISFURTH bin ich zu großem Dank verpflichtet für die Mithilfe bei der Durchführung der Versuche.

Lebenslauf

Am 4.9.1945 wurde ich als einziges Kind des Oberregierungsrates Hans-Walter Weber und seiner Ehefrau Maria, geborene Scheck, in Neunkirchen/Saar geboren.

Von meinem 6. bis 10. Lebensjahr besuchte ich die evangelische Volksschule in Neunkirchen/Saar und anschließend das Staatl. Realgymnasium Neunkirchen/Saar, wo ich am 24.2.1966 die Reifeprüfung bestand.

Vom Sommersemester 1966 an studierte ich Zahnheilkunde an der Universität des Saarlandes, wo ich am 27.2.1968 die naturwissenschaftliche Vorprüfung, am 15.10.1969 die zahnärztliche Vorprüfung und am 20.6.1972 das Staatsexamen ablegte.